

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
22. Juli 2004 (22.07.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/060554 A1(51) Internationale Patentklassifikation⁷: B01J 20/26,
20/30, A61M 1/36, C08F 12/36

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2003/004297

(22) Internationales Anmeldedatum:
29. Dezember 2003 (29.12.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 61 910.7 30. Dezember 2002 (30.12.2002) DE(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): POLYMERICS GMBH [DE/DE]; Landsberger
Allee 378, 12681 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LEISTNER, Aniela
[PL/DE]; Landsberger Allee 378, 12681 Berlin (DE).
LEISTNER, André [DE/DE]; Landsberger Allee 378,
12681 Berlin (DE).(74) Anwalt: KIETZMANN, Manfred; Kietzmann Vosse-
berg Röhncke, Patentanwälte Rechtsanwalt Partnerschaft,
Friedrichstrasse 95, IHZ, P.O. Box 4, 10117 Berlin (DE).(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO Patent (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: ADSORBING MATERIAL FOR BLOOD AND PLASMA CLEANING METHOD AND FOR ALBUMIN PURIFICA-
TION

(54) Bezeichnung: ADSORBERMATERIAL FÜR BLUT-, BLUTPLASMA- UND ALBUMINREINIGUNGSVERFAHREN

(57) Abstract: The invention relates to an absorbing material a method for cleaning blood and plasma and purifying albumin and to a method for producing said absorbing material. The inventive absorbing material is embodied in the form of a highly cross-linked and porous spherical divinylbenzene copolymer which contains from 4 to 30 mass % of vinylamidazole monomer incorporated by radical polymerisation. Said absorbing material is embodied in such a way that it is biocompatible and suitable for removing free albumin-combined toxic substances, drugs, pharmaceutical products, endogenic and exogenic toxins from blood, plasma and an external albumin circuit at a high rate and efficiency. The material is used, in particular for absorbing bilirubin and gallic acids and is produced by suspension polymerisation.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Adsorbermaterial für spezielle Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren sowie ein Verfahren zu seiner Herstellung. Das erfindungsgemäße Adsorbermaterial ist ein hochvernetztes, hochporöses, kugelförmiges Divinylbenzen-Copolymer, das 4 bis 30 Ma% eines radikalisch einpolymerisierten Vinylimidazol-Monomeren enthält. Das Adsorbermaterial ist biokompatibel, und geeignet, freie und albumingebundene Giftstoffe, Drogen, Pharmaka, endogene und exogene Toxine aus dem Blut, Blutplasma bzw. einem externen Albuminkreislauf mit hoher Geschwindigkeit und Kapazität zu entfernen. Es ist besonders geeignet für die Adsorption von Bilirubin und Gallensäuren. Das erfindungsgemäße Adsorbermaterial wird durch Suspensionspolymerisation hergestellt.

Adsorbermaterial für Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren

Die Erfindung betrifft ein Adsorbermaterial für Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren sowie ein Verfahren zu seiner Herstellung.

Anwendungsgebiete für die Erfindung sind spezielle Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren in der Medizin und Pharmazie, die freie und albumingebundene Toxine sowie Giftstoffe aus dem Blut, Blutplasma bzw. Albumin entfernen. Diese Verfahren werden zur Behandlung von Arzneimittel- und Drogenvergiftungen, Vergiftungen mit Chemikalien und hochdosierten Chemotherapiemedikamenten, akutem und chronischem Nierenversagen, akuten und chronischen Lebererkrankungen (wie z.B. Hyperbilirubinämie, Cholestase, hepatische Encephalopathie, fulminantes Leberversagen) sowie Multiorganversagen eingesetzt.

Die konventionellen Methoden der Blutreinigung werden in Membrantechniken (Hämodialyse, Plasmapherese, Ultrafiltration), Adsorptionstechniken (Hämo-
15 perfusion, Plasmaperfusion) und in kombinierte Membran-Adsorptions-Techniken (z.B. MARS®-Verfahren) eingeteilt. Bei den Membrantechniken wird ein unerwünschter Stoff aus einem flüssigen Gemisch entfernt, indem man das Gemisch über eine semipermeable Membran mit einer Spüllösung in Kontakt bringt, die den zu entfernenden Stoff nicht enthält (Dialyse). Der Unterschied
20 zwischen der Konzentration des zu trennenden Stoffes in dem Stoffgemisch und in der Spüllösung ist die Triebkraft für den Konzentrationsausgleich. Ist die Porengröße der semipermeablen Membran so, daß der zu trennende Stoff hindurchdringen kann, erfolgt der Konzentrationsausgleich durch Permeation des zu trennenden Stoffes in die Spüllösung. Bei der Hämo-lyse werden also Memb-
25 ranen eingesetzt, deren Poren groß genug sein müssen für die zu entfernenden Toxine und gleichzeitig klein genug, um die Blutbestandteile höherer Molekülgröße wie z.B. Albumin, Hämoglobin, Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten nicht durchzulassen.

Bei den Adsorptionstechniken (Hämo-perfusion, Plasma-perfusion) fließt das Vollblut bzw. nur das Blutplasma durch eine Säule bzw. Kartusche, die mit einem makroporösen Stoff wie Aktivkohle, Adsorberpolymer oder Ionenaustauscher gefüllt ist und wird dabei entgiftet. Bei der Plasma-perfusion müssen vor dem Adsorptionsschritt die Blutzellen zunächst abgetrennt und nach der Behandlung wieder mit dem Blutplasma zusammengeführt werden.

Zu den kombinierten Verfahren der extrakorporalen Blutreinigung gehört das MARS®-Verfahren (Molecular Adsorbent Recirculating System), das eine Kombination aus Dialyse und Perfusion darstellt. Bei dem MARS®-Verfahren wird das Blut des Patienten durch einen Albumindialysator geleitet und danach dem Patienten zurückgeführt. In dem Albumindialysator zirkuliert an der Waschseite reine Albuminlösung in einer Konzentration von 5–20%. Da die meisten Bluttoxine albumingebunden transportiert werden, entsteht so die Triebkraft für die Toxine, die Dialysemembran zu passieren. Die Albuminwaschlösung wird im Anschluß in-line im Perfusionsblock gereinigt, danach einer Standarddialyse unterworfen und wieder zum Albumindialysator zurückgeführt. Mit diesem Prinzip gelingt es, die Entgiftungsfunktion der Leber zu ersetzen, welche bei Leber-versagen primär lebensbedrohlich ist.

Hämodialyse, Ultrafiltration und Plasmapherese trennen die Bestandteile des Blutes nach ihrer Größe weitgehend unselektiv. Im Unterschied dazu können Sorptionstechniken sowohl sehr selektiv als auch weniger selektiv arbeiten. Die Membranverfahren benötigen maßgeschneiderte Membranen, die Sorptionstechniken benötigen maßgeschneiderte Adsorbermaterialien.

Als Adsorbermaterialien für extrakorporale Blutreinigungsverfahren werden neben der Aktivkohle zunehmend synthetische, makroporöse Adsorberpolymere eingesetzt. Triebkraft für diese Entwicklung sind die Nachteile von Aktivkohle-materialien. Hierzu zählen geringe mechanische Stabilität, geringe Selektivität und geringe Adsorptionsgeschwindigkeit, ferner hohe Rückhaltung von weißen Blutkörperchen und Blutplättchen und die Initiierung von Blutgerinnseln.

In der Literatur und in Patenten werden folgende polymere Adsorbermaterialien beschrieben:

- poröse und hochporöse Styren-Divinylbenzen-Copolymere,
- makroporöse Divinylbenzen-Copolymere,
- 5 • makroporöse Methacrylat- bzw.- Acrylat-Co- und Terpolymere,
- poröse, perlförmige Cellulosederivate.

Adsorbentien aus Aktivkohle bzw. aus beschichteter Aktivkohle, beispielsweise mit einer Lösung aus Polyacrylsäure oder aus Polyacrylsäure und Polyethylenimin wurde in der SU-732207 beschrieben. Weitere polymere Beschichtungen von Aktivkohle wurden in der US-4048064, US-4171283, US-5420601 und SU-844769 beansprucht. Die Nachteile von Aktivkohlen wie die geringe mechanische Stabilität und geringe Adsorptionsgeschwindigkeit konnten dadurch jedoch nicht beseitigt werden.

Makroporöse Styren-Divinylbenzen-Copolymere wurden zur Entfernung von Barbituraten und Glucothimiden aus dem Hundeblood 1974 in der US-3794584 eingesetzt. In der Folgezeit zeigte sich aber, daß sie in hohem Maße unpolär, unselektiv und blutunkompatibel sind. Hochporöse Styren-Divinylbenzen-Copolymere mit spezifischer Oberfläche über 800 m²/g, erhalten durch Nachvernetzung von schwachvernetzten Styren-Divinylbenzen-Copolymeren mit Hilfe von Monochlordimethylether in Gegenwart von Friedel-Crafts-Katalysatoren, wurden zwölf Jahre später 1986 ebenfalls als besonders effektive und schnelladsorbierende Materialien für die Hämo-perfusion in der DD-249274A1 beschrieben. Auch diese Adsorberpolymere haben unzureichende Blutkompatibilität und erfordern zusätzliche Nachbehandlungen. Ferner ist ihre Herstellung durch den Einsatz des cancerogenen Monochlordimethylether mit hohen Risiken für die Menschen und die Umwelt verbunden.

Durch spezielle und aufwendige Modifizierung der Oberfläche von hochporösen Styren-Divinylbenzen-Copolymeren mit Trifluoralkoxyphosphazenen (US-5773384) wird die Blutkompatibilität verbessert. Die nachträgliche Modifizierung verringert jedoch die spezifische Oberfläche und Porenzugänglichkeit und stei-

gert enorm den Reinigungsaufwand, denn alle überschüssigen Reagenzien und Katalysatoren müssen aus den Mikro-, Meso- und Makroporen des Polymeren vor dem Einsatz in der Hämo-perfusion entfernt werden.

Die Modifizierung der Oberfläche von hochvernetzten Divinylbenzen-

- 5 Copolymeren durch Beschichtung oder Pfropfpolymerisation ist Gegenstand der vor kurzem angemeldeten Patente US-6419830 (2001) und US-6423024 (2002) zur Herstellung von hochporösen, kugelförmigen Divinylbenzenharzen für die Absorption von gesundheitsschädlichen Stoffen wie z.B. β -2-Microglobulin aus Blut oder Plasma. Für die Beschichtung werden kommerziell erhältliche, hoch-
- 10 poröse Divinylbenzen-Copolymere eingesetzt, die aus 60 bis 90% Divinylbenzen bestehen, eine spezifische Oberfläche von 200 bis 1600 m²/g aufweisen, Porengrößen von 20 bis 500 Å mit einem Porengesamtvolumen bis 2,5 ml/g haben und im Korngrößenbereich von 25 bis 2500 µm erhältlich sind. Die hä-
- 15 mokompatiblen Schichten werden durch Reaktion der restlichen Vinylgruppen auf der Oberfläche der DVB-Copolymeren mit hämokompatiblen Monomeren oder Polymeren erhalten, bestehend aus Phosphatidylcholin, Heparin, Polyalkylenglykolen, Polyalkoxyphosphazenen und Polyvinylpyrrolidon. Weitere beanspruchte Beschichtungen bestehen aus verschiedenen Vinylpyridin-, Vinylimidazol- und Vinylpyrrolidon-Derivaten sowie verschiedenen Acrylsäure- und
- 20 Methacrylsäurederivaten. Der offensichtliche Nachteil dieser beiden Patente ist, daß die hämokompatible Beschichtung nachträglich erfolgt und wie schon oben aufgeführt ebenfalls zur Reduktion der spezifischen Oberfläche und Porenzugänglichkeit führt. Ein weiterer Nachteil dieses Verfahrens ist die vollständige Entfernung der zur Beschichtung verwendeten Monomeren, die in ihrer mono-
- 25 meren Form oft stark gesundheitsschädigend oder sogar cancerogen sind. Die Reinigung der auf diese Weise hämokompatibel modifizierten Polymere ist also aufwendig, kostspielig und nicht ganz risikofrei.

- Die aus Polymerlösungen aufgetragenen hämokompatiblen Beschichtungen haben dagegen oft den Nachteil, daß sie sich in wäßriger isotonischer Koch-
- 30 salzlösung bzw. in Körperflüssigkeiten teilweise lösen und so unkontrolliert in den Blutkreislauf des Patienten gelangen können.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein vorwiegend kugelförmiges, biokompatibles Adsorbermaterial zur Verfügung zu stellen, das geeignet ist, freie und albumingebundene Giftstoffe, Drogen, Pharmaka, endogene und exogene Toxine aus dem Blut, Blutplasma bzw. einem externen Albuminkreislauf mit hoher Geschwindigkeit und Kapazität zu entfernen. Ferner soll ein Verfahren bereitgestellt werden, mit dem ein derartiges Adsorbermaterial einfach und mit vertretbarem ökonomischem Aufwand herstellbar ist.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß als Adsorbermaterial ein hochvernetztes, hochporöses, partikel- bzw. kugelförmiges Divinylbenzen-Copolymer eingesetzt wird, das aus 4 bis 30 Ma% eines oder mehrerer einpolymerisierter nichtsubstituierter oder substituierter Vinylimidazol-Monomere und 50 bis 85 Ma% einpolymerisiertem Divinylbenzen (DVB) sowie 5 bis 40 Ma% einpolymerisiertem Ethyl-Vinyl-Benzen besteht. Geeignete Vinylimidazol-Monomere sind 1-Vinylimidazol und/oder 4-Vinylimidazol allein bzw. im Gemisch. Weitere geeignete Vinylimidazol-Monomere sind 1-Vinyl-2-methylimidazol, 1-Vinyl-2-ethylimidazol, 1-Propenyl-2-methylimidazol und 1-Allyl-2-methylimidazol allein oder in verschiedenen Gemischen miteinander bzw. mit den unsubstituierten Vinylimidazol-Monomeren. Der Anteil der Imidazol-Monomere in dem erfindungsgemäßen Adsorberpolymeren kann in weiten Grenzen, vorzugsweise zwischen 5 und 20 Mol% variiert werden. Geeignete Divinylbenzen-Monomere sind die kommerziell erhältlichen Lösungen von Divinylbenzen bestehend aus 60 bzw. 80 Ma% Divinylbenzenisomeren und 40 bzw. 20 Ma% verschiedener Isomere des Ethyl-Vinyl-Benzens.

Das erfindungsgemäße Adsorbermaterial besitzt insbesondere eine optimierte spezifische Oberfläche im Bereich von 200 bis 900 m²/g und eine optimierte Porengrößenverteilung mit einem Gesamtporenvolumen von 1,0 bis 2,0 cm³/g. Bevorzugte Ausführungen der Erfindung weisen bis zu 0,3 cm³/g Mikroporen, bis 1,2 cm³/g Mesoporen und bis 0,5 cm³/g Makroporen auf. Nach IUPAC werden Mikroporen definiert als Poren mit einem Porendurchmesser unter 20 Å, Mesoporen sind Poren zwischen 20 und 500 Å und Makroporen sind Poren

größer als 500 Å. Der vorteilhafte durchschnittliche Porendurchmesser liegt zwischen 100 und 500 Å, vorzugsweise bei 300 Å.

5 Ferner weist das Adsorbermaterial vorzugsweise eine Korngrößenverteilung von 50 bis 300 µm auf, insbesondere dann, wenn es in einem Perfusionsverfahren oder im MARS®-Verfahren eingesetzt werden soll. Für neuartige alternative Plasma- und Blutreinigungsverfahren können die Teilchen auch im Korngrößenbereich von 1 bis 50 µm hergestellt werden. Ein besonderer Vorteil der vorliegenden Erfindung ist, daß die Teilchen vorwiegend kugelförmig sind und in enger Korngrößenverteilung hergestellt werden können.

10 Das erfindungsgemäße Adsorbermaterial wird nach dem Verfahren der Suspensionspolymerisation in Gegenwart von ausgewählten inerten Stoffen und Suspensionsstabilisatoren hergestellt. Die Inertstoffe werden nach der Polymerisation wieder aus dem Polymeren entfernt. Sie sind in Verbindung mit dem Anteil an DVB im Polymerisationsansatz für den Grad der Porosität verantwort-
15 lich, d.h. für die Porengrößenverteilung und Porenvolumen. Als verwendbare Inertmittel seien beispielsweise genannt aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe, höhermolekulare Alkohole, Ester, bzw. geeignete Polymerlösungen. Bevorzugte erfindungsgemäße Inertstoffe sind: Toluol, Dichlorethan, Tetra-
20 chlorkohlenstoff, Butylacetat, Ethylacetat, einzeln oder als Gemisch. Der Anteil des Inertstoffes in der organischen Phase kann im Bereich von 25 bis 50 Ma% variiert werden.

Die Aufgabe der Suspensionsstabilisatoren ist, die Koagulation der Tröpfchen während der Polymerisation zu verhindern. Geeignete erfindungsgemäße Suspensionsstabilisatoren sind wasserlösliche synthetische und natürliche Polyme-
25 re, z.B. Polyvinylalkohol, teilweise verseiftes Polyvinylacetat, Methylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Polyacrylsäure-Natriumsalze, Natriumsalz der Carboxymethylcellulose, ferner Pickering-Stabilisatoren, beispielsweise Calciumphosphat, Bentonite, Montmorillonite, Aluminiumhydroxid, Magnesiumhydroxid, Calciumcarbonat.

Die Suspensionspolymerisation wird mit Hilfe von monomerlöslichen radikalischen Initiatoren gestartet. Geeignete erfindungsgemäße Initiatoren sind Dibenzoylperoxid, Methylethylketonperoxid, Azoisobutyronitril. Vorzugsweise wird die Initiatormenge von 0,2 bis 2,0 Ma% bezogen auf das Gewicht des Monomergemisches verwendet.

Das erfindungsgemäß hergestellte Adsorbermaterial weist im Vergleich zu herkömmlichen Aktivkohlen und anderen kommerziellen Adsorbermaterialien wesentlich höhere Adsorptionskapazitäten und Adsorptionsgeschwindigkeiten gegenüber von freien und albumingebundenen Toxinen sowie Giftstoffen auf, insbesondere – wie in den nachfolgenden Beispielen gezeigt wird – gegenüber von Bilirubin-Albumin-Komplexen (B-HSA-Lösungen) und gegenüber von freien Gallensäuren.

Ferner adsorbiert das erfindungsgemäße Adsorbermaterial ebenfalls N-Acetyltryptophan, Octansäure, Fettsäuren, Phenole und Coffein mit wesentlich höherer Geschwindigkeit und Kapazität als die kommerziell erhältlichen Adsorbermaterialien. Außerdem besitzt dieses Adsorbermaterial gute Biokompatibilität, wie in Cytotoxizitätstests und Hämolysetests gezeigt werden konnte. Das Adsorbermaterial läßt sich ohne Beeinträchtigung seiner vorteilhaften Eigenschaften sterilisieren und aufgrund seiner guten mechanischen Stabilität abriebfrei behandeln. Bei der Anwendung in Säulen und Kartuschen zeigt es vorteilhaftes Strömungsverhalten, so daß Durchflußgeschwindigkeiten bis 200 ml/min realisierbar sind. Das erfindungsgemäße Adsorbermaterial wurde in Bilirubin-Humanserum-Albumin-Lösungen sowohl im Batch-Verfahren (statischer Bilirubintest) als auch unter Kreislaufbedingungen (dynamischer Bilirubintest) geprüft.

Die Erfindung wird im folgenden anhand nachstehender Beispiele näher erläutert.

Beispiel 1

Herstellung eines erfindungsgemäßen Adsorbermaterials (AM1)

In einem ummantelten 250-ml-Zylindergefäß, ausgestattet mit KPG-Rührer, Rückflußkühler, Temperaturfühler und 2 Schikanen werden 0,28 g Polyvinylal-
5 kohol mit einer Molmasse von 49000 g/mol in 142,5 g deionisiertem Wasser bei 30 °C gelöst. Danach werden 7,5 g NaCl zugegeben und die Lösung auf 70 °C gebracht. Die Rührgeschwindigkeit wird dabei auf 650 U/min eingestellt. Die Monomermischung, bestehend aus 18,7 g Divinylbenzen, 12,5 g 1-Vinylimidazol, 18,7 g Ethylacetat und 0,25 g AIBN, wird auf einmal zugegeben.
10 Die entstandene Emulsion wird bis zur Ausbildung stabiler Tröpfchengröße 60 min bei 70 °C gerührt, danach auf 80 °C erhitzt und bei dieser Temperatur 10 h polymerisiert. Die entstandene Suspension wurde danach auf Raumtemperatur abgekühlt, auf einer Filternutsche abfiltriert, zunächst mit 3fachem Bettvolumen an deionisiertem Wasser und danach mit 2fachem Bettvolumen Ethanol gewa-
15 schen. Anschließend wurde der Filterkuchen 12 h bei 100 °C in einem Vakuumtrockenschrank getrocknet.

Die Zusammensetzung des Copolymers wurde mit Hilfe der Elementaranalyse bestimmt. Der gefundene Stickstoffwert betrug 6,2%, das entspricht 20,8 Ma% bzw. 26,7 Mol% an Vinylimidazol in dem Divinylbenzen-Vinylimidazol-
20 Copolymeren. Die Ausbeute betrug 22 g. Die erhaltenen Partikel waren kugelförmig und lagen im Korngrößenbereich von 50 bis 150 µm (Fig. 1). Die spezifische Oberfläche, bestimmt mit der BET-Stickstoffadsorption, betrug 509 m²/g. Das Gesamtporenvolumen lag bei 1,3 ml/g und setzte sich zusammen aus 0,25 ml/g Mikroporen, 0,75 ml/g Mesoporen und 0,3 ml/g Makroporen in 1 g des Co-
25 polymeren.

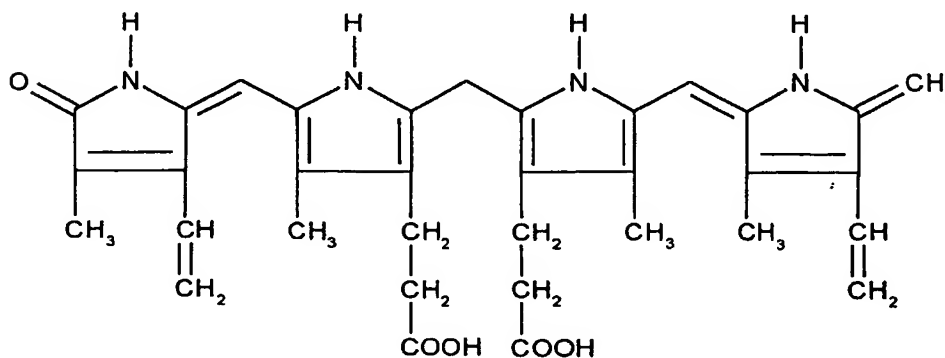
Beispiel 2

Bestimmung des Adsorptionsverhaltens gegenüber von Bilirubin

Die Eignung der erfindungsgemäßen Adsorbermaterialien für die extrakorporale Blutreinigung wurde mit Hilfe eines statischen und eines dynamischen Bilirubin-
30 Adsorptionstests bewertet und mit den zur Zeit in der Medizin üblichen Aktiv-

kohleadsorbenzien verglichen. Es ist bekannt, daß das menschliche Albumin das Bilirubin besonders stark bindet. Aufgrund dessen wird das Adsorptionsverhalten verschiedener Adsorbentien gegenüber Bilirubin-Humanserum-Albumin-Komplexen stellvertretend für zahlreiche weitere albumingebundene Bluttoxine und Giftstoffe betrachtet.

Bilirubin ist ein Abbauprodukt des Hämoglobins (roter Blutfarbstoff) und kommt in den Gallenfarbstoffen vor. Bei Gelbsuchtkranken tritt es in erhöhtem Maße im Blut auf und verursacht die charakteristische Gelbfärbung der Patienten. Bilirubin entsteht normalerweise in der Milz durch oxidative Spaltung des Porphyrin-Rings des Häms und nachfolgende Hydrierung des grünen Zwischenprodukts Biliverdin. Als Entkoppler oxidativer Phosphorylierung ist Bilirubin hochgiftig für den Organismus und wird deshalb in der Blutbahn an Serum-Albumin gebunden und zur Leber transportiert. Bei Patienten mit akutem Leberversagen kann die Leber das Albumin nicht vom Bilirubin befreien. Diese Aufgabe der Leber sollen selektive Adsorberharze in den Perfusionsverfahren und gegebenenfalls eine selektive Membran in der MARS®-Anlage übernehmen.



Inhalt des Eppendorfgefäßes quantitativ in eine braune 100-ml-Flasche überführt, in der vorher 28 ml 20%ige HSA-Lösung (Aventis) und 84 ml 0,9%ige NaCl-Lösung vorgelegt wurden. Die so hergestellte B-HSA-Lösung enthält 5 Ma% Albumin und 504 µmol Bilirubin pro Liter B-HSA-Lösung.

5 Konditionierung der Adsorbermaterialien

500 mg des getrockneten Adsorbermaterials werden in ein SPE-Säulchen eingewogen und auf einer SPE-Vakuumstation plaziert. Das Adsorbermaterial wird jetzt nacheinander 2 mal mit 5 ml 70 %iger EthanolLösung versetzt, 5 mal mit 5 ml Wasser gewaschen und anschließend 3 mal mit 0,9 %iger NaCl-Lösung gewaschen und dann 2 min trockengesaugt.

Statischer Bilirubintest (Batch-Verfahren)

500 mg des konditionierten Adsorbermaterials werden in einem Schüttelgefäß mit 5 ml B-HSA-Lösung versetzt. Anschließend werden die Proben in einem Laborschüttler intensiv geschüttelt. In Zeitabständen von 15, 60 und 120 min wird der Schüttelversuch unterbrochen und aus der überstehenden Lösung 100 µl Probe für die UV-spektroskopische Bestimmung der Bilirubin-Restkonzentration entnommen, mit 0,9 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung verdünnt und in einer 0,2-cm-Küvette vermessen.

Für die Bestimmung der Bilirubin-Restkonzentration wird das langwellige Absorptionsmaximum bei 453 nm genutzt. Die Änderung des Extinktionsmaximums dieser Bande entspricht der Änderung der Bilirubinkonzentration in der B-HSA-Lösung. Als Referenzwert dient die Extinktion der B-HSA-Lösung vor dem Kontakt mit dem Adsorbermaterial. So lassen sich relative Konzentrationsänderungen leicht ermitteln. Üblicherweise wird die verbleibende Bilirubinkonzentration nach 15, 60 und 120 min als Gruppe von 3 Zahlenwerten in % angegeben. Die Referenz-B-HSA-Lösung enthält 5% Humanserum-Albumin und 505 µmol/l Bilirubin. Die Ergebnisse zeigt Fig. 2a.

Dynamischer Bilirubintest (Kreislaufverfahren)

Zum Vergleich des erfindungsgemäßen Adsorbermaterials mit der zur Zeit in der Medizin üblicherweise eingesetzten Aktivkohle wurde ein dynamischer Bilirubin-Adsorptionstest entwickelt. Dieser Test versucht, die Bedingungen in einem konventionellen Perfusionsverfahren bzw. in einer MARS®-Anlage zu simulieren. Hierzu wird das Adsorbermaterial in Festphasenextraktionssäulen („Minikartuschen“) gegeben und auf eine SPE-Station aufgesetzt. Es wird dann wie oben konditioniert und anschließend mit B-HSA-Lösung versetzt. Mit Hilfe
5
10
15
20
25
30
leichten Unterdrucks wird die Lösung durch das Adsorbermaterial durchgesaugt und im Filtrat die Bilirubinkonzentration UV-spektroskopisch bestimmt. Das Filtrat wird anschließend erneut in die Säule gegeben und die gesamte Prozedur 7 mal wiederholt. Die Ergebnisse zeigt Fig. 2b.

Vergleichsbeispiel

- Zum Vergleich des Adsorptionsverhaltens des erfindungsgemäßen Adsorbermaterials wurden die zur Zeit in der Medizin verbreitete Aktivkohle nach dem oben beschriebenen Verfahren konditioniert und sowohl dem statischen als auch dem dynamischen Bilirubintest unterworfen. Die Fig. 2 zeigt das Verhalten der Aktivkohle und der erfindungsgemäßen Adsorbermaterialien im statischen und dynamischen Test nebeneinander.
- 20 Die Adsorptionsgeschwindigkeit des erfindungsgemäßen Adsorbermaterials ist wesentlich höher als die der zur Zeit eingesetzten Aktivkohle (statischer Test, Fig. 2a). Die Aktivkohle adsorbiert innerhalb 1 h ca. 60 % des Bilirubins aus der B-HSA-Lösung. Im Vergleich dazu adsorbiert das Adsorbermaterial unter den gleichen Bedingungen fast das gesamte Bilirubin (98–100 %).
- 25 Im dynamischen Test zeigt sich die Überlegenheit des Adsorbermaterials noch deutlicher (Fig. 2b). Während die Aktivkohle unter dynamischen Bedingungen so gut wie nicht adsorbieren kann, zeigt das erfindungsgemäße Adsorbermaterial eine exponentiell verlaufende Abnahme der Bilirubinkonzentration. Nach 7 Durchgängen durch das Adsorberbett beträgt die relative Bilirubin-
- 30 Restkonzentration im Filtrat ca. 25 %. Dieses Ergebnis läßt eine deutliche Ver-

kürzung der Behandlungszeit, eine Steigerung der Wirksamkeit und eine Erhöhung der Überlebenschancen von Patienten mit akutem Leberversagen erwarten.

Beispiel 3

- 5 200 mg des Adsorbermaterials AM1 wurden in eine 6-ml-SPE-Säule eingewogen und mit 5 ml 70 Ma%iger Ethanollösung, 5 ml dest. Wasser und 5 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung konditioniert. Das so vorbereitete Adsorbermaterial wurde anschließend mit 2 ml einer Gallensäurelösung ($c = 1 \text{ mg/ml}$) in 0,9 %iger NaCl-Lösung beladen. 20 μl des Eluats wurden dann auf eine GPC-Säule HEMA
- 10 2000 gegeben, mit 0,9 %iger NaCl eluiert und mit RI-Detektor detektiert. Die Beladung mit Gallensäurelösung wurde so oft wiederholt, bis im Chromatogramm ein Peak der Gallensäuren nachgewiesen werden konnte. Aus der Anzahl der Beladungsschritte bis zu diesem Zeitpunkt wurde die Kapazität des Adsorbermaterials zu 210 mg Gallensäuren pro Gramm Adsorbermaterial AM1
- 15 ermittelt.

Patentansprüche

1. Adsorbermaterial auf der Basis vernetzter, poröser Imidazol-Divinylbenzen-Copolymere, gekennzeichnet dadurch, dass

5 durch spezifische Suspensionspolymerisation in Gegenwart von Luft und/oder Sauerstoff sowie eines Salzes und Inertstoffes ein Monomergemisch aus mindestens 50 Gew.% Divinylbenzen-Vernetzer und 4 – 30 Gew.% eines Imidazol-Derivates radikalisch polymerisiert wird, wobei ein hochvernetztes, hochporöses, kugelförmiges Adsorbermaterial mit
10 den spezifischen Charakteristika Oberfläche, Porengrößenverteilung, Porendurchmesser und Korngrößenbereich für Blut-, Blutplasma- und Albuminreinigungsverfahren bereitgestellt wird.

- 15 2. Adsorptionsmaterial nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, dass

die radikalisch polymerisierbaren Imidazol-Derivate 1- oder 4- substituierte Vinyl-, Allyl- und/ oder Propenylimidazole oder deren Gemische sind.

- 20 3. Adsorbermaterial nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, dass

das Divinylbenzen-Copolymere aus 50 bis 85 Ma% einpolymerisierten isomeren Divinylbenzen-Monomeren und 5 bis 40 Gew% einpolymerisierten isomeren Ethyl-Vinyl-
25 Benzen-Monomeren besteht..

4. Adsorbermaterial nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, dass

30 es eine spezifische Oberfläche von 200 bis 900 m²/g hat.

5. Adsorbermaterial nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, dass

es ein Gesamtporenvolumen von 1,0 bis 2,0 cm³/g hat, wobei in 1 g des Materials bis 0,3 cm³ Mikroporen, bis 1,2 cm³ Mesoporen und bis 0,5 cm³ Makroporen enthalten sind.

5

6. Adsorbermaterial nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, dass

die Partikel vorwiegend kugelförmig sind und in einem Korngrößenbereich von 1 bis 300 µm, vorzugsweise 50 bis 200 µm oder 1 bis 50 µm vorliegen.

10

7. Verfahren der Suspensionspolymerisation zur Herstellung des Adsorbermaterials nach Anspruch 1,

15

bei dem die wäßrige Phase 5 bis 25 Gew% eines Salzes sowie 0,5 bis 5 Gew.% eines Suspensionsstabilisators enthält, die organische Phase 25 bis 50 Gew.% eines Inertstoffes enthält und die Polymerisation in Gegenwart von Luft bzw. Sauerstoff geführt wird.

20

8. Verfahren nach Anspruch 7, gekennzeichnet dadurch, dass

als Inertstoffe bevorzugt Toluol, Ethylacetat, Butylacetat, Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff einzeln oder als Gemisch verwendet werden.

25

9. Verfahren nach Anspruch 7, gekennzeichnet dadurch, dass

als Suspensionsstabilisatoren bevorzugt Polyvinylalkohol oder Methylcellulose oder Hydroxyethylcellulose oder Calciumphosphat oder Aluminiumhydroxid oder Magnesiumhydroxid verwendet wird.

30

10. Verwendung des Adsorbermaterials nach Anspruch 1 bis 9,

zur Blutreinigung in Plasma- bzw. Blutperfusionsverfahren.

5

11. Verwendung des Adsorbermaterials nach Anspruch 1 bis 9,

im Molecular Adsorbent Recirculating System (MARS®-Verfahren).

10

12. Verwendung des Adsorbermaterials nach Anspruch 1 bis 9,

als Adsorbens für Bilirubin und Gallensäuren.

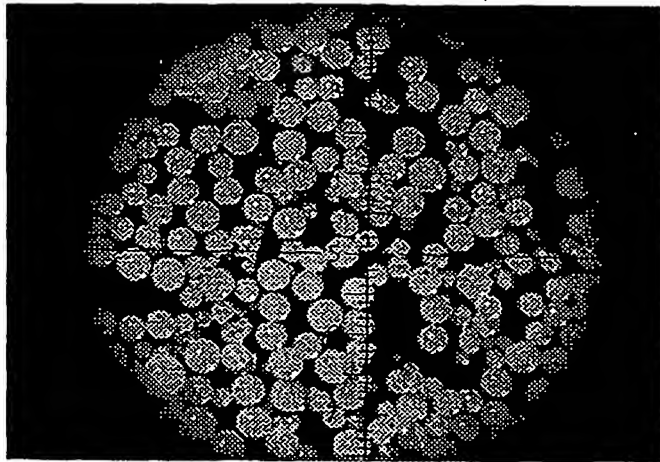


Fig. 1: Teilchenform und -verteilung des Adsorbermaterials aus Beispiel 1

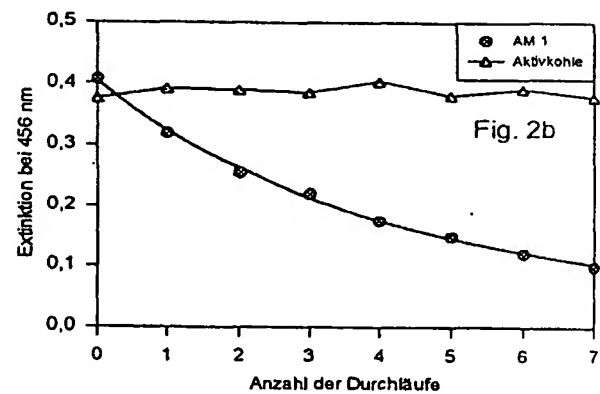
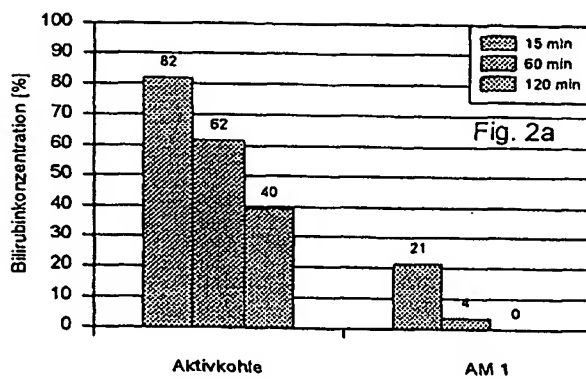


Fig. 2: Vergleich von Aktivkohle und Adsorbermaterial im statischen (a) und dynamischen (b) Bilirubin-Adsorptionstest.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 03/04297

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01J20/26 B01J20/30 A61M1/36 C08F12/36

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01J A61M C08F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC, COMPENDEX, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4 202 775 A (ABE TSUTOMU ET AL) 13 May 1980 (1980-05-13) abstract column 2, line 13 - line 29 column 2, line 52 - line 55 column 3, line 20 column 3, line 31 - line 39 column 3, line 62 - line 63 column 9, line 7 - line 20 column 11, line 23 - line 40 column 11, line 65 - column 12, line 15 column 9, line 7 - line 20	1-12
Y		1-9
Y	DE 199 22 268 A (GATSCHKE GERT) 9 November 2000 (2000-11-09) abstract page 4, line 55 - page 5, line 63	1-9
	--- -/-	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 June 2004

Date of mailing of the international search report

14/06/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Gosselin, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 03/04297

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 177 513 B1 (FUKUMA DAIGO ET AL) 23 January 2001 (2001-01-23) column 2, line 20 - line 54 column 3, line 35 -column 4, line 44 claims 1,5,13,15	1-9
A	---	10-12
A	WO 02/059184 A (UNIV VIRGINIA COMMONWEALTH) 1 August 2002 (2002-08-01) page 14, line 9 -page 15, line 6	1-9
A	---	1-6
A	EP 0 319 144 A (ASAHI CHEMICAL IND ;ASAHI MEDICAL CO (JP)) 7 June 1989 (1989-06-07) page 6, line 46 -page 7, line 25	1-6
A	---	1-12
A	US 6 419 830 B2 (MURRAY DANIEL J ET AL) 16 July 2002 (2002-07-16) cited in the application abstract column 3, line 41 - line 50	1-12
A	---	1-12
A	US 6 423 024 B1 (MURRAY DANIEL J ET AL) 23 July 2002 (2002-07-23) cited in the application abstract column 3, line 46 - line 55	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 03/04297

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4202775	A	13-05-1980	JP 1195111 C	12-03-1984
			JP 54009183 A	23-01-1979
			JP 58029134 B	21-06-1983
			JP 1143500 C	26-04-1983
			JP 54015381 A	05-02-1979
			JP 56007437 B	18-02-1981
			DE 2827109 A1	04-01-1979
			FR 2400936 A1	23-03-1979
			GB 2000150 A , B	04-01-1979
DE 19922268	A	09-11-2000	DE 19922268 A1	09-11-2000
US 6177513	B1	23-01-2001	JP 2000074900 A	14-03-2000
WO 02059184	A	01-08-2002	WO 02059184 A2	01-08-2002
			US 2002102312 A1	01-08-2002
EP 0319144	A	07-06-1989	JP 2045065 A	15-02-1990
			JP 2052669 A	22-02-1990
			JP 1124468 A	17-05-1989
			JP 2665526 B2	22-10-1997
			EP 0319144 A1	07-06-1989
			US 5051185 A	24-09-1991
US 6419830	B2	14-02-2002	US 2001032819 A1	25-10-2001
			US 2001008958 A1	19-07-2001
			US 6238795 B1	29-05-2001
			US 2002017488 A1	14-02-2002
			US 2002091231 A1	11-07-2002
			AU 1923200 A	07-08-2000
			CA 2358949 A1	27-07-2000
			EP 1148944 A1	31-10-2001
			JP 2003506111 T	18-02-2003
			WO 0043120 A1	27-07-2000
US 6423024	B1	11-07-2002	US 2002017488 A1	14-02-2002
			US 2001032819 A1	25-10-2001
			US 2001008958 A1	19-07-2001
			US 6238795 B1	29-05-2001
			US 2002091231 A1	11-07-2002
			AU 1923200 A	07-08-2000
			CA 2358949 A1	27-07-2000
			EP 1148944 A1	31-10-2001
			JP 2003506111 T	18-02-2003
			WO 0043120 A1	27-07-2000

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Institut Aktenzeichen

PCT/DE 03/04297

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 B01J20/26 B01J20/30 A61M1/36 C08F12/36

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 B01J A61M C08F

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC, COMPENDEX, BIOSIS, EMBASE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 4 202 775 A (ABE TSUTOMU ET AL) 13. Mai 1980 (1980-05-13) Zusammenfassung Spalte 2, Zeile 13 - Zeile 29 Spalte 2, Zeile 52 - Zeile 55 Spalte 3, Zeile 20 Spalte 3, Zeile 31 - Zeile 39 Spalte 3, Zeile 62 - Zeile 63 Spalte 9, Zeile 7 - Zeile 20 Spalte 11, Zeile 23 - Zeile 40 Spalte 11, Zeile 65 - Spalte 12, Zeile 15	1-12
Y	Spalte 9, Zeile 7 - Zeile 20	1-9
Y	DE 199 22 268 A (GATSCHKE GERT) 9. November 2000 (2000-11-09) Zusammenfassung Seite 4, Zeile 55 - Seite 5, Zeile 63 --- -/-	1-9

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

7. Juni 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

14/06/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Gosselin, D

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 6 177 513 B1 (FUKUMA DAIGO ET AL) 23. Januar 2001 (2001-01-23) Spalte 2, Zeile 20 - Zeile 54 Spalte 3, Zeile 35 - Spalte 4, Zeile 44 Ansprüche 1,5,13,15	1-9
A	---	10-12
A	WO 02/059184 A (UNIV VIRGINIA COMMONWEALTH) 1. August 2002 (2002-08-01) Seite 14, Zeile 9 -Seite 15, Zeile 6 ---	1-9
A	EP 0 319 144 A (ASAHI CHEMICAL IND ;ASAHI MEDICAL CO (JP)) 7. Juni 1989 (1989-06-07) Seite 6, Zeile 46 -Seite 7, Zeile 25 ---	1-6
A	US 6 419 830 B2 (MURRAY DANIEL J ET AL) 16. Juli 2002 (2002-07-16) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung Spalte 3, Zeile 41 - Zeile 50 ---	1-12
A	US 6 423 024 B1 (MURRAY DANIEL J ET AL) 23. Juli 2002 (2002-07-23) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung Spalte 3, Zeile 46 - Zeile 55 -----	1-12

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die derselben Patentfamilie gehören

Inventor Aktenzeichen

PCT/DE 03/04297

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 4202775 A	13-05-1980	JP 1195111 C	12-03-1984
		JP 54009183 A	23-01-1979
		JP 58029134 B	21-06-1983
		JP 1143500 C	26-04-1983
		JP 54015381 A	05-02-1979
		JP 56007437 B	18-02-1981
		DE 2827109 A1	04-01-1979
		FR 2400936 A1	23-03-1979
		GB 2000150 A , B	04-01-1979
DE 19922268 A	09-11-2000	DE 19922268 A1	09-11-2000
US 6177513 B1	23-01-2001	JP 2000074900 A	14-03-2000
WO 02059184 A	01-08-2002	WO 02059184 A2	01-08-2002
		US 2002102312 A1	01-08-2002
EP 0319144 A	07-06-1989	JP 2045065 A	15-02-1990
		JP 2052669 A	22-02-1990
		JP 1124468 A	17-05-1989
		JP 2665526 B2	22-10-1997
		EP 0319144 A1	07-06-1989
		US 5051185 A	24-09-1991
US 6419830 B2	14-02-2002	US 2001032819 A1	25-10-2001
		US 2001008958 A1	19-07-2001
		US 6238795 B1	29-05-2001
		US 2002017488 A1	14-02-2002
		US 2002091231 A1	11-07-2002
		AU 1923200 A	07-08-2000
		CA 2358949 A1	27-07-2000
		EP 1148944 A1	31-10-2001
		JP 2003506111 T	18-02-2003
		WO 0043120 A1	27-07-2000
US 6423024 B1	11-07-2002	US 2002017488 A1	14-02-2002
		US 2001032819 A1	25-10-2001
		US 2001008958 A1	19-07-2001
		US 6238795 B1	29-05-2001
		US 2002091231 A1	11-07-2002
		AU 1923200 A	07-08-2000
		CA 2358949 A1	27-07-2000
		EP 1148944 A1	31-10-2001
		JP 2003506111 T	18-02-2003
		WO 0043120 A1	27-07-2000

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.